

УДК 576.893.19 : 593.195 : 595.3

© 1994

ОПИСАНИЕ НОВОГО РОДА LARSSONIA НА ОСНОВАНИИ ИЗУЧЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ MICROSPORIDIUM (PLEISTOPHORA) OBTUSA ИЗ DAPHNIA PULEX (CLADOCERA)

С. С. Видтманн, Ю. Я. Соколова

Изучена ультраструктура основных стадий развития микроспоридии, первоначально описанной как *Pleistophora obtusa*, затем перенесенной в род *Microsporidium*. Характерной чертой вида является наличие промежуточной диплокариотической стадии между меро- и спорогонией. Все остальные стадии развития — монокариотичны. Спорофорные пузырьки содержат четные числа спор (от 4 до 32), формирующихся в результате розетковидного почкования. Микроспоридия локализуется в жировом теле дафнии. Размеры живых спор $4.3-4.6 \times 2.6-3.0$ мкм. Проведен сравнительный анализ полиспоровых родов микроспоридий подкласса Nosematida. На основании особенностей строения ядерного аппарата на разных стадиях жизненного цикла, а также других деталей ультратонкого строения стадий и спор описываемой микроспоридии обосновывается выделение нового рода *Larssonia*. Виду *Microsporidium obtusa* присваивается новая комбинация *Larssonia obtusa* comb. n. Приводится обзор полиспоровых видов рода *Microsporidium* из Cladocera и их сравнение с описываемым видом. Высказывается предположение, что вид *Microsporidium* sp. III 10 Loubes 1979 также может быть отнесен к новому роду.

По литературе известно более 30 видов микроспоридий из Cladocera (Larsson, 1981, 1988; Воронин, 1986). Однако лишь 9 из них *Baculea daphniae* (Loubes, Akbarieh, 1978); *Microsporidium* sp. III 10, *Microsporidium* sp. III 11, *Microsporidium* sp. III 12 (Loubes, 1979); *Bervaldia singularis* (Larsson, 1981); *Norlevinea daphniae* (Vavra, 1984); *Gurleyides ceriodaphniae* (Воронин, 1986); *Perezia diaphanosomae* (Воронин, 1988); *Agglomerata sidae* (Larsson, Yan, 1988) изучены на ультраструктурном уровне.

В настоящей работе приводится электронно-микроскопическое описание *Microsporidium obtusa* — вида, подробно изученного на светооптическом уровне Ировцем (Jirovec, 1936) как *Pleistophora obtusa* f. *typica*. Спэрэг перенес данный вид в род *Microsporidium* (Sprague, 1977). В работе Воронина (1986) приводятся краткое описание *Microsporidium obtusa* и фотография живых спор, из которых очевидна идентичность названного выше и изучаемого видов микроспоридий. По совокупности ультраструктурных признаков, о которых речь пойдет ниже, данный вид не может быть отнесен ни к одному из известных родов, поэтому в настоящей статье обосновывается необходимость создания нового рода *Larssonia*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал был собран летом 1989 г. в птичьем пруду зоосада г. Каунаса путем отлова ракообразных *Daphnia pulex*, из числа которых при визуальном обследовании изымались зараженные микроспоридиями особи, отличавшиеся

молочно-белой окраской тела. Из живых зараженных рачков готовились водные и тушевые препараты и мазки для последующей окраски по Романовскому-Гимза (Воронин, Исси, 1974). Для исследования ядерного аппарата применялась окраска ядер по Вайзеру (Weiser, 1976). С помощью винтового окуляр-микрометра измеряли 31 живую и 25 окрашенных спор, а также другие стадии развития паразита. На основе данных морфометрии выполнялись масштабные рисунки. Фотографирование живых спор производилось с водных препаратов при помощи микроскопа МБИ-15 с фотонасадкой. Для определения экстенсивности заражения было обследовано более 1000 рачков.

Для электронной микроскопии больные рачки фиксировались 2.5%-ным раствором глутарового альдегида на какодилатном буфере. Образцы хранились в фиксаторе от 2 до 30 сут. После промывки буфером образцы дофиксировались в 1%-ном растворе OsO_4 с добавлением 2.5%-ной сахарозы. Обезвоживание проводилось в серии спиртов повышающейся концентрации от 30 до 100 % и в абсолютном ацетоне. В качестве заливочной среды использовался аралдит. Срезы изготавливались на ультрамикротоме Reichert—Young. Ультратонкие срезы контрастировались цитратом свинца по Рейнольдсу и насыщенным раствором уранилацетата на 50%-ном этаноле и просматривались в электронный микроскоп Hitachi H-300. Полутонкие срезы для световой микроскопии окрашивались метиленовым синим.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Зараженность и патология. Зараженными, как правило, были крупные рачки (более 1.7 мкм). Экстенсивность заражения составляла около 6 %. Поражалась только жировая ткань, которая при интенсивном заражении особи была видна невооруженным глазом в виде молочно-белой массы, просвечивающей через покровы рачка. Споры паразита при последующем микроскопировании обнаруживались в гемоцитах. Мышечная ткань всегда оставалась свободной от микроспоридий так же, как гиподерма и яичники. Несмотря на отсутствие спор и стадий паразитов в мышцах, одним из симптомов заражения было некоторое ограничение двигательной активности зараженных рачков.

Световая микроскопия. На препаратах, окрашенных по методу Романовского—Гимза, обнаружены многоядерные стадии мерогонии, диплокариотические клетки, спорогональные плазмодии, спорофорные пузырьки и формирующиеся в них по типу «розетки» споробласты и споры (рис. 1). Амебоидные клетки ($n=15$) 4×7 мкм с 3—7 одиночными ядрами представляют собой мерогональные плазмодии. Цитоплазма плазмодиев окрашивается в интенсивно фиолетовые, ядра — в рубиновые тона. Диплокариотические клетки ($n=43$) амебоидной формы, $3.1 \pm 0.5 \times 3.4 \pm 0.3$ мкм, вероятно, представляют собой кратковременную переходную от меро- к спорогонии стадию и идентифицируются нами как поздние меронты или ранние споронты. Спорогональные плазмодии ($n=87$) — амебоидные клетки с рыхлой, сильно вакуолизированной цитоплазмой и одиночными ядрами, окрашивающимися в розовый цвет и расположенными по периферии плазмодия вблизи оболочки. Число ядер — четное, варьирует в пределах от 2 до 20. Наиболее часто встречаются 8-ядерные формы. Спорофорные пузырьки ($n=130$) диаметром 9—10.5 мкм несут четные количества (4—32) споробластов и спор, расположенных розеткой. 8-споровые спорофорные пузырьки составляют 32 %, 16-споровые — 18, 10-споровые — 14, 12- и 14-споровые — по 9 % от числа просмотренных пузырьков. Созревшие споры при механическом воздействии легко высвобождаются из спорофорного пузырька.

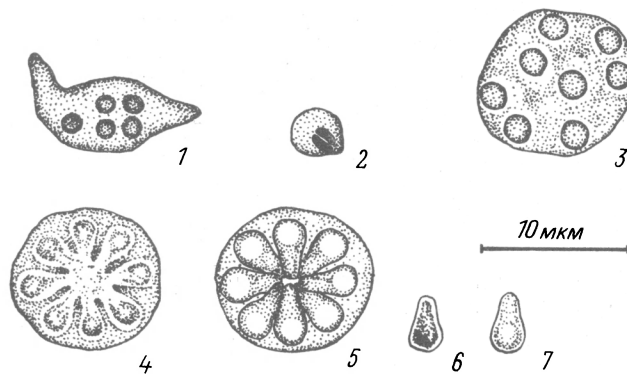


Рис. 1. Стадии развития *Larssonia obtusa*.

1 — мерогональный плазмодий; 2 — диплокариотическая клетка (поздний меронт или ранний споронт); 3 — спорогональный плазмодий; 4 — спорофорный пузырек с формирующимися споробластами; 5 — 8-споровый спорофорный пузырек; 6 — спора, окрашенная по Романовскому—Гимза; 7 — живая спора.

Fig. 1. Stages of development of *Larssonia obtusa*.

Споры — грушевидные, одноядерные. Размеры живых спор (рис. 2, 1; см. вкл.) $4.3-4.6 \times 2.6-3.0$, окрашенных — $3.7-4.0 \times 2.2-2.7$ мкм. Споры окружены слизистой капсулой диаметром $8.1-10.8$ мкм, которая особенно хорошо выявляется на тушевых препаратах. Длина полярной трубки в выброшенном состоянии составляет $35-40$ мкм.

Электронная микроскопия. Наиболее ранняя стадия, наблюдаемая нами в электронный микроскоп, — поздний меронт (рис. 2, 3). Клетки паразита на этой стадии окружены единственной оболочкой — плазматической мембраной. Они содержат 1—2 диплокариона с гомогенной нуклеоплазмой. Мембранные структуры типа каналов эндоплазматической сети, различных везикул встречаются редко.

Следующей выявленной стадией был спорогональный плазмодий (СП) (рис. 2, 4). Основным отличием СП от предыдущей стадии является отсутствие диплокарионов. В цитоплазме плазмодия содержится 1—6 одиночных ядер. В ядрах выявляются синаптомемальные комплексы, свидетельствующие о редукционном делении, имевшем место перед образованием многоядерного плазмодия. В оболочку ядер встроены центриольные пластинки. По сравнению с меронтом цитоплазма СП выглядит более дифференцированной. В ней присутствуют многочисленные цистерны гладкой и шероховатой эндоплазматических сетей, заметны везикулы, отщепляющиеся от расширенного перинуклеарного пространства. На стадии СП происходит закладка оболочки споробластов и спор. Первоначально формирование электронноплотных участков, подстилающих плазмалемму СП (оболочку спорофорного пузырька), происходит вблизи последней (рис. 2, 4). Оказывается, что электронноплотные участки всегда сопровождаются наличием в близлежащей цитоплазме структур, идентифицированных нами как парамуральные тела (ПТ) (рис. 2, 4). Последние могут также располагаться вблизи плазматической мембраны СП, не имеющей под собой электронноплотных структур. ПТ представляет собой скопление извитых мембранных канальцев, часто заполненных электронноплотными гранулами (рис. 2, 4А). На следующем этапе морфогенеза отдельные дискретные участки новообразованного электронноплотного слоя сливаются, т. е. формируется целостная дополнительная оболочка, подстилающая оболочку спорофорного пузырька. Одновременно она погружается в глубь цитоплазмы (рис. 2, 5).

На этом этапе становится заметно, что новая оболочка включает в себя мембрану типа плазматической, которая на отдельных участках «оголяется», оставляя поры, периодически пронизывающие электронноплотный слой аморфного вещества (рис. 2, 5, 6). Новая оболочка погружается в глубь цитоплазмы, обособляя ядра и окружающие их участки цитоплазмы (рис. 2, 6). Таким образом, формируется следующая стадия спорогонии паразита — стадия розетки. Ядра располагаются в «почках» розетки, преимущественно по периферии клетки, а парамуральные тела — у основания лопастей (рис. 2, 6). Образование розетки при сохранении оболочки спорофорного пузырька ведет к формированию полости спорофорного пузырька, заполненной мелкозернистым секретом (рис. 2, 6). Далее происходит отъединение почек розетки друг от друга и замыкание электронноплотных оболочек вокруг них. Структура оболочки вокруг сформировавшихся таким образом споробластов становится более упорядоченной. Оболочка состоит из 3 слоев: плазматической мембраны, электронно-прозрачного слоя толщиной около 150 нм (будущей эндоспоры), от которого иногда отслаиваются мембраноподобные структуры (рис. 3, 2А, Б; см. вкл.). Интересно, что парамуральные тела, на этом этапе представляющие собой скопления концентрически уложенных узких мембранных каналов, после обособления споробластов остаются внутри полости спорофорного пузырька. Ультраструктура цитоплазмы молодых споробластов характеризуется сильной вакуолизацией, обилием каналов эндоплазматической сети и других мембранных структур (рис. 3, 1, 2). На более поздних этапах формирования внутри споробластов появляются везикулы аппарата Гольджи, заполненные электронноплотным секретом. От аппарата Гольджи отделяются более крупные цистерны, содержащие зачатки полярной трубки (рис. 3, 3). Клетка споробласта вытягивается в длину, по форме становясь похожей на спору. В ней вычленяются передний полюс с зачатком полярной шапочки и основанием полярной трубки и задний, на котором располагаются витки полярной трубки, цистерны аппарата Гольджи (рис. 3, 4, 5) и электронноплотное образование неясной природы (задняя вакуоль), возможно, представляющее собой секрет аппарата Гольджи (рис. 3, 6). Споробласт превращается в молодую спору (рис. 3, 6). Споры лежат группами внутри оболочки спорофорного пузырька (рис. 2, 1; 4, 7; см. вкл.), постепенно истончающейся и исчезающей после окончательного созревания спор. Оболочка зрелых спор состоит из плазмалеммы (7—8 нм толщиной), эндоспоры (900 нм в самой широкой части), суживающейся к переднему концу, и экзоспоры, состоящей из двух слоев толщиной 100 и 150 нм. На внешней оболочке экзоспоры формируется дополнительный эписпоральный слой, состоящий из тонких нитей (рис. 4, 2), который, вероятно, и представляет собой слизистую капсулу. Изофилярная трубка, диаметром 0.1 мкм, образует 6—8 витков. Пластинчатый полярный пласт занимает более 1/3 объема споры и состоит из двух частей. Передняя часть, прилегающая к якорному диску, состоит из разреженных пластин, расстояние между которыми 300—500 нм, нижняя — из плотноупакованных (расстояние между пластинами 100 нм). Диаметр полярного диска 0.5 мкм. В центре споры располагается 1 ядро. В ее задней части лежит задняя вакуоль (рис. 3, 6; 4, 1, 2, 5, 6).

В процессе спорогенеза структура внутреннего содержимого полости спорофорного пузырька также претерпевает изменения. В начале синтеза дополнительной оболочки розетки полость спорофорного пузырька заполнена мелким зернистым секретом (рис. 2, 5), в котором после обособления споробластов выявляются парамуральные тела (рис. 3, 1), по-видимому, уже выполнившие свою функцию центров синтеза оболочки споробластов, и гранулы секрета в виде мелких 3-слойных пластинок, иногда вытянутых или свернутых в кольцевые структуры (рис. 4, 4, 5). По мере формирования

Т а б л и ц а 1

Полиспоровые роды подкласса Nosematidea, имеющие спорофорную оболочку

T a b l e 1. Polysporal genera of Nosematidae having a sporophorous capsule

Род и автор	Тип строения ядерного аппарата в:				Количество спор в спорофорном пузырьке	Тип деления споронта	Форма спорофорного пузырька	Форма споры	Строение полярной трубки	Тип полярного пласта
	ме-ронт	про-межут	спо-ронт	споре						
<i>Agglomerata</i> (Larsson, Yan, 1988)	1	?	1	1	Больше 8	Почкование розетко-образное	Сферическая	Грушевидная	Слабоанизофилярная	Пластинчатый + трубчатый
<i>Bohuslavia</i> (Larsson, 1985)	2	2	2	1	8—16	Тот же	Та же	Удлиненно-грушевидная	То же	Камерный + пластинчатый
<i>Cystosporogenes</i> (Canning e. a., 1985)	1	1	1	1	<i>n</i>	Пластотомия	»	Палочковидная	?	Пластинчатый + пластинчатый
<i>Duboscqia</i> (Perez, 1909; Kudo, 1942)	1	1	1	1	16	?	»	Овальная	?	?
<i>Glugea</i> (Thelohan, 1891; Canning, Lom, Nicholas, 1982)	1	1	1	1	<i>n</i>	Розетко-образное почкование	»	Та же	Изофилярная	Пластинчатый + пластинчатый
<i>Mitopleistophora</i> (Codreanu, 1966)	?	?	?	?	?	?	Треугольная	Грушевидная	?	?
<i>Ovavesicula</i> (Andreadis, Hanula, 1987)	2	2	2	2	32	Пластотомия	Овальная	Сферическо-овальная	Изофилярная	Пластинчатый + пластинчатый
<i>Pleistophora</i> (Gurley, 1893; Canning, Nicholas, 1982)	1	1	1	1	<i>n</i>	Тот же	Сферическая	Овальная	То же	Тот же
<i>Polydispyrenia</i> (Canning, Hasard, 1982)	2	2	2	1	8	»	Та же	Та же	»	»

Т а б л и ц а 1 (продолжение)

Род и автор	Тип строения ядерного аппарата b:				Количество спор в спорофорном пузырьке	Тип деления споронта	Форма спорофорного пузырька	Форма споры	Строение полярной трубки	Тип полярного пласта
	ме-ронтe	про-межут	спо-ронтe	споре						
<i>Pseudopleistophora</i> (Sprague, 1977; Szollosi, 1979)	2	2	2	2	<i>n</i>	Пластотомия	Сферическая	Овальная	Изофилярная	Пластинчатый + пластинчатый
<i>Stempellia</i> (Leger, Hesse, 1910)	1	?	2	1	4	Розеткообразное почкование	Та же	Грушевидная	То же	Тот же
<i>Stempellia</i> (Desportes, 1976)	1	1	1	1	8	Тот же	»	Та же	»	»
<i>Trichoduboscqia</i> (Leger, 1926; Batson, 1982)	2	2	2	1	16—32	»	»	»	?	»
<i>Vavraia</i> (Weiser, 1977; Canning, Hasard, 1982)	1	1	1	1	8, 16, 32	Пластотомия + розеткообразное почкование	»	Овальная	Изофилярная, анизофилярная	»
Обнаруженный вид	1	2	1	1	Четное: 4—32	Розеткообразное почкование		Грушевидная	Изофилярная	»

спор оба типа секрета и остатки парамуральных тел исчезают, а с экстрацеллюлярной стороны мембраны спорофорного пузырька скапливается значительное число везикул различного диаметра, заполненных электронноплотным или электронно-прозрачным содержимым (рис. 4, 3, 5), сохраняющихся и после исчезновения оболочки спорофорного пузырька.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основными признаками нового рода, входящими в его диагноз, являются: полиспоровость; наличие промежуточной диплокариотической стадии между монокариотическими мерогонией и спорогонией; четное, но не обязательно кратное 4 или 8 число спор в спорофорном пузырьке; деление споронта по типу розеткообразного почкования; грушевидное строение спор; изофилярная полярная трубка; двухчастный пластинчатый полярный пласт.

Фактом, не вызывающим сомнения, является полиспоровость обнаруженного вида, причем его спорогония проходит внутри спорофорного пузырька. Спорообразование 14 родов микроспоридий подкласса Nosematida осуществляется в спорофорных пузырьках (табл. 1). Фундаментальные различия между этими родами заключаются прежде всего в строении и плоидности ядерного аппарата на различных стадиях развития, в строении и происхождении спорофорного пузырька, способе и количестве делений спорогонального плазмодия, в строении спор. Строгая монокариотичность на протяжении всего жизненного цикла, характерная для родов *Cystosporogones*, *Duboscqia*, *Glugea*, *Pleistophora*, *Vavraia*, так же как и диплокариотичность всех стадий родов *Ovavesicula* и *Pseudopleistophora*, исключает возможность причисления к ним найденного вида.

Меронты и споронты *Trichoduboscqia* диплокариотичны, а споры одноядерны (Batson, 1982). Спорофорные пузырьки содержат в основном 16 и 32 споры. Характерной отличительной чертой этого рода является наличие на поверхности спорофорных пузырьков 4 или 3 нитевидных придатков.

Присутствие на поверхности спорофорных пузырьков *Mitopleistophora* (Codreanu, 1966) нитевидных придатков, треугольная форма самих пузырьков, образование больших переменных чисел спор также достаточно убедительно отличают представителей этого рода от найденной микроспоридии.

Род *Polydispyrenia* (Canning, Hazard, 1982) характеризуется образованием спорогональных плазмодиев с диплокариотическими ядрами, делением плазмодиев по типу пластотомии и постоянным числом спор (8) в спорофорном пузырьке. Ни один из этих признаков не обнаружен у описываемого вида.

На основании изучения и переописания *Thelohania asterias* Weiser, 1963 и анализа признаков *Stempellia simulii* (Maurand, Manier, 1967) был образован род *Bohuslavia* (Larsson, 1985). По ряду признаков, таких, как форма, некоторые особенности внутреннего строения спор (структура оболочки, изофилярность полярной трубки), их переменное количество внутри спорофорного пузырька, наличие слизистых капсул, образование мерогональных плазмодиев с розетковидно расположенными ядрами, представители рода *Bohuslavia* сходны с изучаемым видом. Однако ввиду существенных различий в строении ядерного аппарата — диплокариотичности стадий мерогонии и спорогонии, а также наличия характерного «камерного» полярного пласта у *Bohuslavia* обнаруженный вид не может быть причислен к этому роду. Представители рода *Agglomerata* (Larsson, Yan,

1988), несмотря на значительное сходство (однойядерность меро- и спорогонии, образование большого переменного числа грушевидных спор в результате розетковидного почкования), отличаются от описанного вида следующими признаками: отсутствием в цикле развития диплокариотической стадии, анизофилярностью полярной трубки и строением полярного пласта.

От микроспоридий рода *Pulicispora* (Ведмедь и др., 1991) описываемый вид отличается формой спор, отсутствием анизофилярной полярной трубки. Для *Pulicispora* характерно также диплокариотическое строение ядер споронтов и монокариотическое — споробластов и спор; у *L. obtusa* все стадии спорогонии — однойядерны.

Наиболее близок к описываемому род *Stempellia* (Leger, Hesse, 1910), который был описан на основе светоптического исследования микроспоридии *S. mutabilis* из жирового тела поденки *Ephemera vulgata*. В качестве родовых признаков авторы указывают формирование 1—8 спор, заключенных в спорофорный пузырек, и образование хозяином цист, внутри которых скапливаются различные стадии развития простейших (цит. по: Kudo, 1924). Исследование типового вида рода в электронный микроскоп (Desportes, 1976) показало, что в его цикле развития имеют место два типа спорогонии, ведущие начало от споронтов, различающихся по строению ядерного аппарата. При первом типе спорогонии диплокариотические споронты формируют 8-ядерные спорогональные плазмодии, в которых в результате розеткообразного почкования формируются 8 однойядерных тонкостенных микроспор. При втором типе спорогонии из крупных монокариотических споронтов образуются спорофорные пузырьки, содержащие по 4 толстостенные однойядерные макроспоры. Таким образом, описываемый вид не может быть отнесен к роду *Stempellia*, так как он обладает лишь одним типом спорогонии, в результате которой образуются одинаковые по строению споры, независимо от их количества в спорофорном пузырьке. Кроме того, число спор в пузырьке может включать любые четные числа от 4 до 32, не обязательно кратные 4. Сравниваемые виды также отличаются по строению полярного пласта и по кругу инвазируемых хозяев, относящихся к разным систематическим группам (Insecta и Crustacea).

Итак, такие признаки, как формирование переменного числа спор в спорофорном пузырьке, строение оболочки спорофорного пузырька, розеткообразное почкование споронта, а также внутренняя структура спор отличают описываемый род от других родов сем. Thelohaniidae, для всех представителей которого, включая и описываемый нами вид, характерно наличие диплокариотической стадии в период перехода от мерогонии к спорогонии (Исси, 1986).

На основании вышеизложенного вид *Microsporidium obtusa* целесообразно выделить в новый род в пределах сем. Thelohaniidae. Мы называем новый род — *Larssonia* — в честь крупнейшего специалиста по систематике микроспоридий проф. Ронни Ларссона. Из 35 видов микроспоридий из Cladocera (Larsson, 1981; Larsson, Yan, 1988) родовая принадлежность 15 видов не определена, и они помещены в сборный род *Microsporidium* (Sprague, 1977). Шесть видов из этой группы являются полиспоровыми (табл. 2). В настоящее время, помимо описываемого в данной статье вида *M. obtusa*, к данному роду, вероятно, относится и вид *Microsporidium* sp. III 10 (Loubes, 1979), о чем говорит полиспоровость, розетковидное спорообразование, локализация, а также такие морфологические характеристики споры, как размеры, форма, количество ядер, строение полярного пласта и полярной трубки (Loubes, 1979) (табл. 2). Однако пока не известно количество ядер на всех стадиях жизненного цикла и спор в спорофорных пузырьках, говорить о родовой принадлежности данного вида преждевременно. Сравнение других видов этой группы с описываемым видом по

Т а б л и ц а 2

Полиспоровые виды рода *Microsporidium* из Cladocera, образующие спорофорную оболочкуT a b l e 2. Polysporal species of the genus *Microsporidium* from Cladocera forming a sporophorous capsule

Вид и автор	Хозяин	Локализация	Количество спор в спорофорном пузырьке	Количество ядер в споре	Размеры спор (мкм)	Форма спор
<i>Microsporidium cladocera</i> (Pfeiffer, 1895)	<i>Daphnia magna</i> Linnetis sp.	Жировое тело, гиподерма	8, 16	?	2×3	?
<i>Microsporidium leydigii</i> (Pfeiffer, 1895)	<i>Daphnia pulex</i>	Жировое тело, яичник, гиподерма	8, 12, 14	?	5×8	Грушевидная
<i>Microsporidium</i> sp. III 10 (Loubes, 1979)	<i>Daphnia pulex</i>	Жировое тело, гиподерма	?	1	4—4.5×2.5	Та же
<i>Microsporidium</i> sp. III 11 (Loubes, 1979)	<i>Simocephalus vetulus</i>	Гиподерма	12	9	2.5—3×1.5	»
<i>Microsporidium</i> sp. III 12 (Loubes, 1979)	<i>Chydorus sphaericus</i>	Жировое тело, гиподерма	4	1	3×1.6	Овальная
Обнаруженный вид	<i>Daphnia pulex</i>	Жировое тело	Четное: 4—32	1	4.3—4.6× ×26—3	Грушевидная

таким признакам, как размер и форма спор, количество спор в спорофорных пузырьках, внутритканевая локализация, вид ракообразного хозяина, говорит о существенных различиях между видами.

Таким образом, определив найденный вид как *Microsporidium obtusa*, мы описываем для него новый род *Larssonia* и вводим новую комбинацию для данного вида *Larssonia obtusa*.

Гапантотип № Д1/89/1 и парагапантотипы № Д1/89/2—Д1/89/5 хранятся в Институте зоологии АН Литвы, г. Вильнюс.

LARSSONIA gen. n.

Меронты с одиночными ядрами. В конце мерогонии образуются диплокариотические клетки (поздние меронты или ранние споронты). Спорогония и споры монокариотические, однотипные. Спорофорные пузырьки содержат четные числа спор (4—32), формирующихся в результате розетковидного почкования. Оболочка спорофорного пузырька тонкая, непрочная, мембраноидного строения. Внутри пузырька находятся скопления трубчатого и пластинчатого секретов. Экзоспора двуслойная, полярная трубка изофилярная. Поляропласт двухчастный, сложнопластинчатый.

Larssonia obtusa Moniez, 1887 comb. n.

Х о з я и н: *Daphnia pulex* De Geer.

Л о к а л и з а ц и я: жировое тело.

М е с т о о б н а р у ж е н и я: птичий пруд зоосада г. Каунаса. Вегетативные стадии: многоядерные мерогональные плазмодии размерами 4×7 мкм. Поздние меронты (ранние споронты) диплокариотические, округлые, диаметром 3.1—3.4 мкм.

Стадии спорогонии: спорогональные плазмодии округлые, с произвольным четным числом (4—20) одиночных ядер, расположенных по периферии плазмодия.

Спорофорные пузырьки сферические, диаметром 9.0—10.5 мкм, содержат «розетки» из четных чисел спор (4—32). Оболочка спорофорного пузырька тонкая, субперсистентная.

Споры грушевидные. Размеры живых спор: 4.3—4.6×2.6—3.0 мкм. Диаметр слизистой капсулы 8.1—10.8 мкм. Полярная трубка образует внутри споры 6—8 витков. Длина полярной трубки 35—40 мкм.¹

Список литературы

- Ведмедь А. И., Крылова С. В., Исси И. В. Микроспоридия *Pulicispora xenopsyllae* gen. n., sp. n. из блох рода *Xenopsylla* // Паразитология. 1991. Т. 25, вып. 1. С. 13—19.
- Воронин В. Н. Микроспоридии ракообразных // Микроспоридии. 1986. Вып. 10. С. 137—167.
- Воронин В. Н. Ультратонкая организация микроспоридии *Perezia diaphanosomae* // Цитология. 1988. Т. 30, № 6. С. 770—772.
- Воронин В. Н., Исси И. В. О методиках работы с микроспоридиями // Паразитология. 1974. Т. 8, вып. 3. С. 272—273.
- Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Микроспоридии. 1986. Вып. 10. С. 6—136.
- Andreadis T. G., Hanula J. L. Ultrastructural study and description of *Ovavesicula popilliae* n. g. n. sp. (Microsporida, Pleistophoridae) from the Japanese Beetle *Popillia japonica* (Coleoptera, Scarabaeidae) // J. Protozool. 1987. Vol. 34. P. 15—21.

¹ Авторы выражают глубокую благодарность профессору И. В. Исси за консультации при подготовке статьи, а также старшему научному сотруднику ГосНИОРХа В. Н. Воронину за критический анализ первого варианта статьи и помощь при определении вида исследуемой микроспоридии.

- Batson B. S. A light and electron microscopical study of *Trichoduboscqia eperoi* Leger (Microspora, Duboscqidea) // J. Protozool. 1982. Vol. 29. P. 202—217.
- Canning E. U., Barker R. J., Nicholas J. P., Page A. M. The ultrastructure of three microsporidia from winter moth, *Operophtera brumata* (L.) and the establishment of a new genus *Cystosporogenes* n. g. for *Pleistophora operophterae* (Canning, 1960) // Syst. Parasitol. 1985. Vol. 7. P. 213—225.
- Canning E. U., Lom I., Nicholas J. P. Genus *Glugea* Thelohan 1891 (Phylum Microspora): redescription of the type species *Glugea anomala* (Monier, 1987) and recognition of its sporogonic development within sporophorous vesicles (pansporoblastic membranes) // Protistologica. 1982. Vol. 18. P. 193—210.
- Canning E. U., Hazard E. I. Genus *Pleistophora* Gurley 1893, an assemblage of at least three genera // J. Protozool. 1982. Vol. 29. P. 39—48.
- Codreanu R. On the occurrence of spore and sporont appendages in the microsporidia and their taxonomic significance // Proc. 1st Int. Congr. Parasitol. Roma, 1966. P. 602—603.
- Desportes J. Ultrastructure de *Stempelia mutabilis* Leger et Hesse, microsporidie parasite de l'*Ephemera vulgata* L. // Protistologica. 1976. Vol. 12. P. 121—150.
- Jirovec O. Studien uber Microsporidien // Vestn. csl. zemed. mus. 1936. Vol. 4. P. 1—75.
- Kudo R. R. A biological and taxonomic study of the Microsporidia // Ill. Biol. Monogr. 1924. Vol. 1. 268 p.
- Kudo R. R. On the microsporidian *Duboscqia legeri* Perez 1908, parasitic in *Reticulitermes flavipes* // J. Morphol. 1942. Vol. 7. P. 307—326.
- Larsson R. A new microsporidium *Bervaldia singularis* gen. et sp. nov. from *Daphnia pulex* and a survey of microsporidia described from Cladocera // Parasitology. 1981. Vol. 83. P. 307—326.
- Larsson R. On the cytology, development and systematic position of *Thelohania asterias* Wieser 1963, with creation of new genus *Bohuslavia* (Microspora, Thelohaniidae) // Protistologica. 1985. Vol. 21. P. 235—248.
- Larsson R. Identification of microsporidian genera (Protozoa, Microspora), a guide with comments on the taxonomy // Arch. Protistenkd. 1988. Bd 136. S. 1—37.
- Larsson R., Yan N. The ultrastructural cytology and taxonomy of *Duboscqia sidae* Jarovec 1942 (Microspora, Duboscqiidae) with establishment of the new genus *Agglomerata* // Arch. Protistenkd. 1988. Bd 135. S. 271—288.
- Loubes C. Ultrastructure, sexualite, dimorphisme sporogonique des Microsporidies (Protozoaires). Incidences taxonomique et biologique // These. Academie de Montpellier. Univ. Sci. Tech. Languedoc. 1979. 185 p.
- Loubes C., Akbarieh M. Etude ultrastructurale de la Microsporidie *Baculea daphniae* n. gen., n. sp., parasite de l'epithelium intestinal de *Daphnia pulex* Leydig, 1860 (Crustace, Cladocere) // Protistologica. 1978. Vol. 14, N 1. P. 23—38.
- Maurand J., Manier J. P. Une microsporidie nouvelle pour les larves de *Simulies* // Protistologica. 1967. Vol. 3. P. 445—449.
- Sprague V. Systematics of the Microsporida // Comparative Pathobiology. 1977. Vol. 2. 510 p.
- Szollósi D. Development of *Pleistophora* sp. (Microsporidian) in eggs of *Polychaeta Armandia brevis* // J. Invertebr. Pathol. 1979. Vol. 18, N 1. P. 1—15.
- Vavra J. *Norlevinea* n. g., a new genus for *Glugea daphniae* (Protozoa: Microspora), a parasite of *Daphnia longispina* (Crustacea, Phyllopoda) // J. Protozool. 1984. Vol. 31, N 4. P. 508—513.
- Weiser J. The *Pleistophora debaisieuxi xenoma* // Z. Parazitenk. 1976. Bd 48, N 3—4. S. 263—270.

Институт зоологии АН Литвы,
Вильнюс;
Всероссийский НИИ защиты растений,
С.-Петербург

Поступила 22.05.1991
После доработки 12.11.1993

THE DESCRIPTION OF THE NEW GENUS LARSSONIA GEN. N. BASED ON THE
ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF MICROSPORIDIUM (PLEISTOPHORA) OBTUSA
FROM DAPHNIA PULEX (CLADOCERA)

S. S. Vidtman, Yu. Ya. Sokolova

Key words: *Microsporidium*, *Larssonia*, *Larssonia obtusa*, fine structure, life cycle.

SUMMARY

The ultrastructure of the microsporidian primary described as *Pleistophora obtusa* and transferred later to the genus *Microsporidium* (Sprague, 1977) has been studied. The most striking feature of its life cycle is the presence of a short intermediate stage between mero- and sporogony. All other development stages possess monocarions. Sporophorous vesicles contain even number of spores (from 4 to 32) resulted from «rosette-like» budding. The walls of the sporophorous vesicle are thin and fragile. The secrete formation of lamellar and tubular structures are abundant inside the vesicles. Exospore consists of two layers. The polar tube has isofilar structure and forms 6—8 coils inside the spore. Polaroplast is separated in two parts altering in the density of lamellae.

The parasites are localized mostly in the *Daphnia pulex* fat body. The size measurements of living spores are $4.3\text{--}4.6 \times 2.6\text{--}3$ micrometers.

The comparative analysis of polysporal microsporidia genera of the subclass Nosematida is given. The peculiarities of the nuclear structure of different development stages as well as other ultrastructural features allow us to establish new genus *Larssonia*. The new combination *Larssonia obtusa* comb. n. is given for the former *Microsporidium obtusa*. The survey of polysporal species of the genus *Microsporidium* from Cladocera and their comparison with *L. obtusa* lead to the conclusion that *Microsporidium* sp. 111 10 Loubes, 1979 seems also to belong to the genus *Larssonia*.

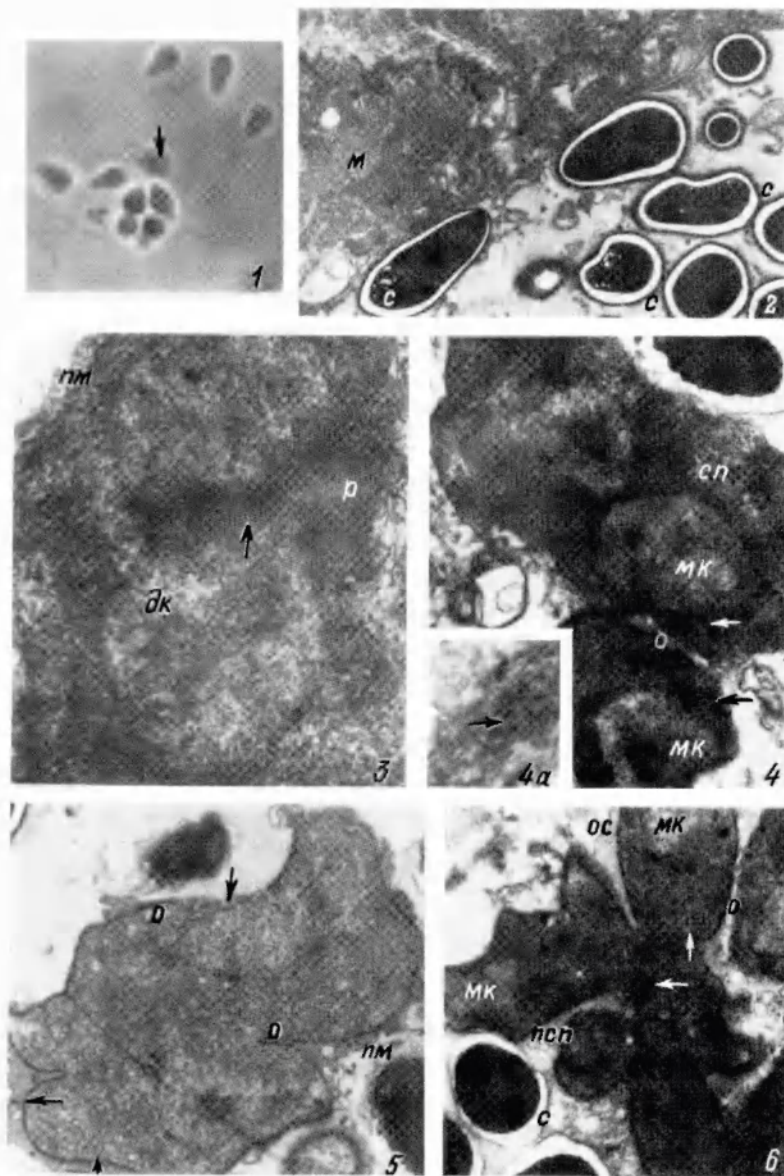


Рис. 2. Стадии развития *Larssonia obtusa*: споры и стадии мерогонии.

1 — живые споры, стрелка — спорофорный пузырек; 2 — мышечная ткань и жировое тело со зрелыми спорами; 3 — поздний меронт; 4 — спорогональный плазмодий; 4А — парамуральное тело (стрелка); 5 — спорогональный плазмодий, стрелка — участки, где электронноплотная оболочка еще не сформирована; 6 — спорогональный плазмодий на стадии «розетки»; ДК — диплокарион; М — мышечная ткань; Мк — монокарион; О — утолщенная оболочка плазмодия; ОС — оболочка спорофорного пузырька; ПМ — плазматическая мембрана; ПСП — полость спорофорного пузырька; Р — рибосомы; С — спора; СП — спорогональный плазмодий; ЭПС — эндоплазматическая сеть; 1 — 2000X; 2 — 7000X; 3 — 30 000X; 4 — 14 000X; 5 — 15 000X; 6 — 10 500X.

Fig. 2. Stages of development of *Larssonia obtusa*: spores and meronts.

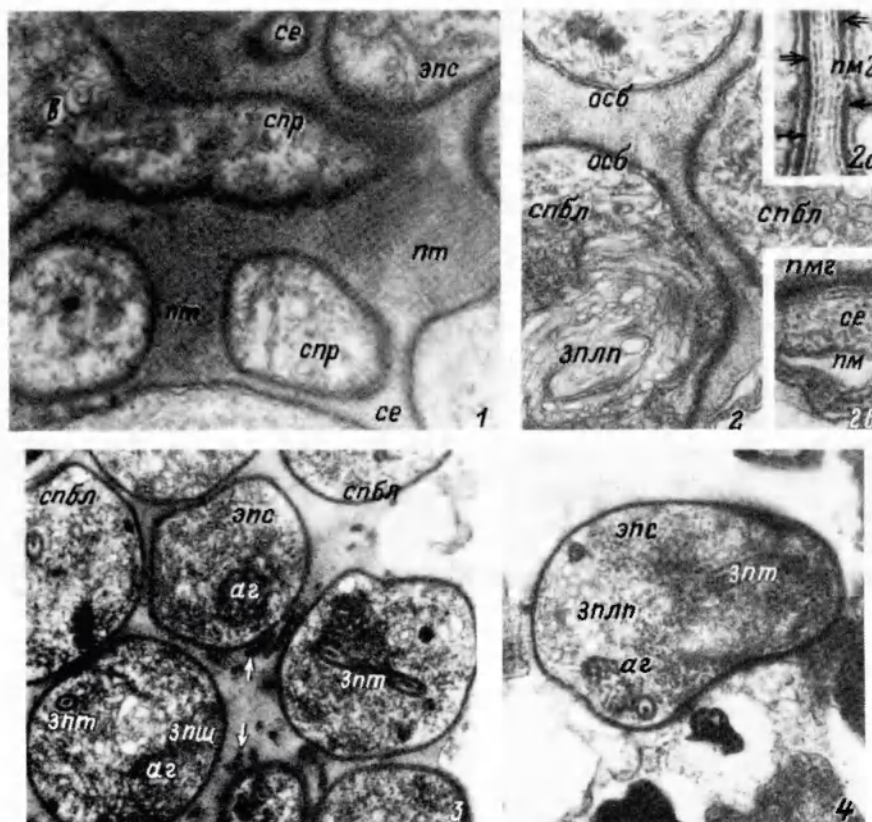


Рис. 3. Ультраструктура стадий развития *Larssonia obtusa*: спорогония.

1 — срез через центральную часть «розетки»; 2 — участок спорофорного пузырька; 2А — участки оболочек двух соседних споробластов; 2Б — граница спорофорного пузырька; стрелка — зачаток эндоспоры, двойная стрелка — зачаток экзоспоры; 3 — участок спорофорного пузырька, стрелка — секреторные гранулы, образующиеся при формировании спор; 4 — продольный срез через споробласт; 5 — то же на более поздней стадии развития; 6 — продольный срез через молодую спору, штриховая стрелка — плазмалемма, стрелка — эндоспора, двойная стрелка — экзоспора; АГ — аппарат Гольджи; В — вакуоль; ЗПл — зачаток полярного тела; ЗПТ — зачаток полярной трубки; ЗПШ — зачаток полярной шапочки; ОСб — оболочка споробласта; ПМ2 — плазматическая мембрана споробласта; ПТ — парамуральное тело; ПТР — полярная трубка; Се — секрет; Спбл — споробласты; Спр — споронт; Эн — эли-спора; 1 — 354 000X; 2 — 26 700X; 3 — 18 000X; 4 — 18 000X; 5 — 30 000X; 6 — 36 000X, Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 3. The ultrastructure of development stages of *Larssonia obtusa*: sporogony.

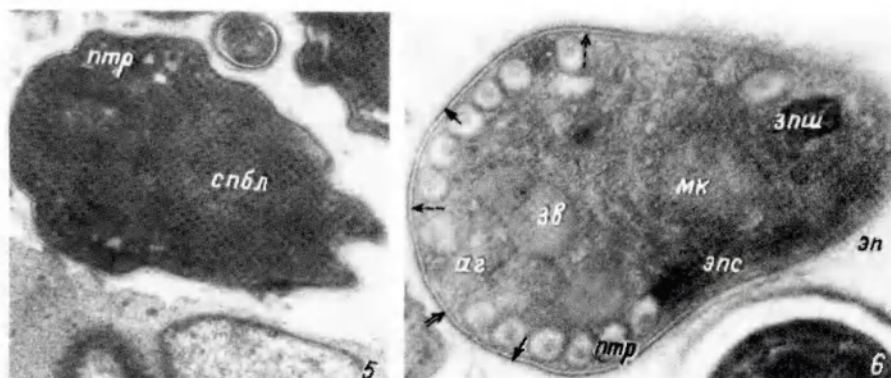


Рис. 3 (продолжение).

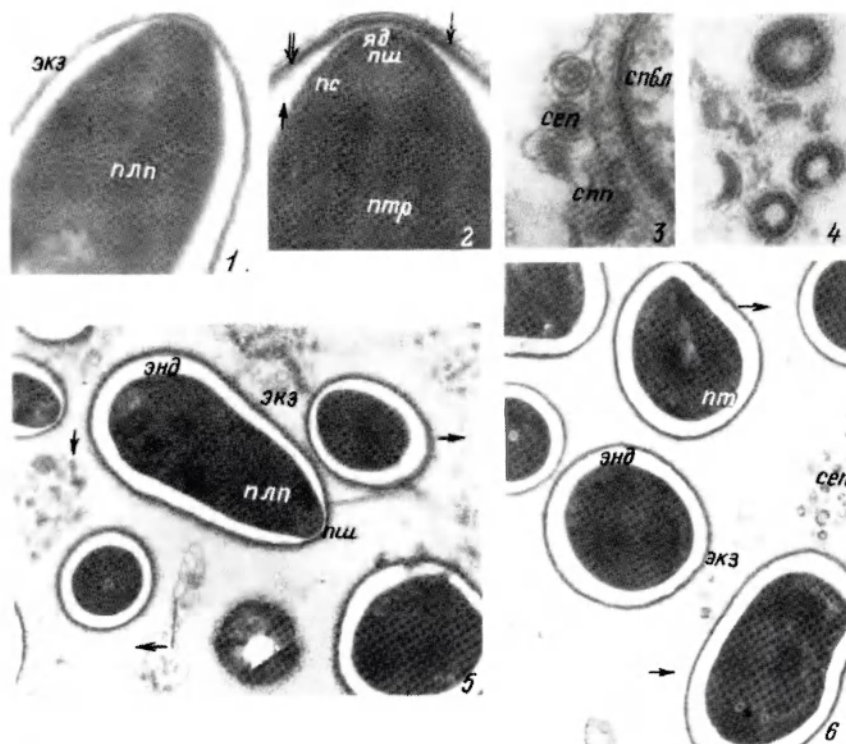


Рис. 4. Ультраструктура стадий развития *Larssonia obtusa* (1–6) и *L. daphniae* (7): споры и спорофорные пузырьки.

1 — срез через передний конец споры; 2 — то же, стрелка — эндоспора, двойная стрелка — экзоспора, штриховая стрелка — эписпора; 3 — секреторные пузырьки на внешней поверхности спорофорного пузырька; 4 — гранулы секрета; 5, 6 — срез через спорофорный пузырек со зрелыми спорами, стрелки — границы спорофорного пузырька; 7 — стадии развития *L. daphniae* в жировой ткани рачка; Пп — полярный пласт; Пс — полярный сак; Пш — полярная шапочка; СпП — спорофорный пузырек; Сеп — секреторные пузырьки; Экз — экзоспора; Энд — эндоспора; ЯД — якорный диск. 1' — спорогональный плазмодий; 2', 3' — «розетки» споронтов в спорофорном пузырьке; 4', 5' — споробласты в спорофорном пузырьке; 6' — споры; 1 — 40 000×; 2 — 36 000×; 3 — 120 000×; 4 — 80 000×; 5, 6 — 26 000×; 7 — 6000×.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig 4. The ultrastructure of development stages of *Larssonia obtusa* (1–6) and *L. daphniae* (7): spores and sporophorous vesicles.

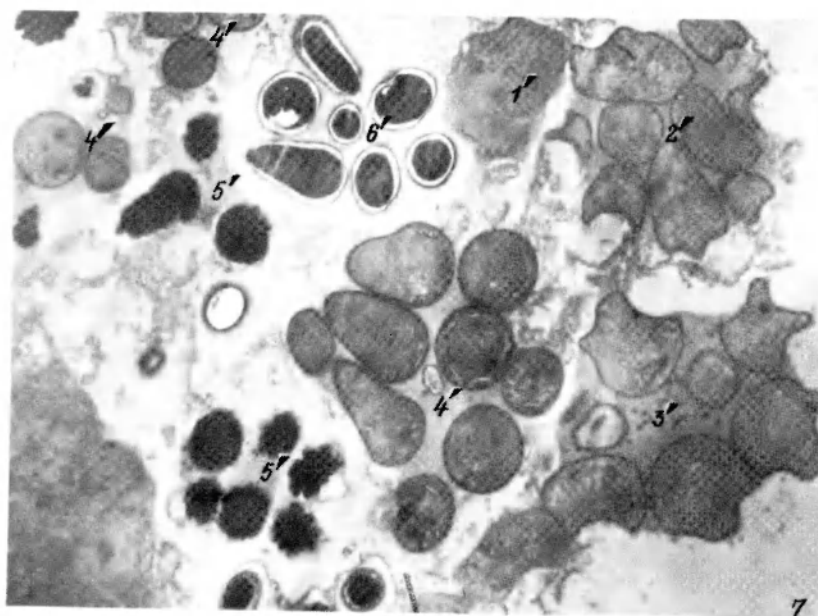


Рис. 4 (продолжение).